

原著論文

## 黒毛和種 ET 子牛における加熱処理初乳の給与が血中 IgG および炎症性サイトカイン濃度に及ぼす影響

平林晴飛<sup>1,2</sup>・都丸友久<sup>1</sup>・菊佳男<sup>3\*</sup>・菅原和恵<sup>3</sup>・林智人<sup>3</sup>・櫛引史郎<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> 群馬県畜産試験場 (〒 371-0103 群馬県前橋市富士見町小暮 2425)

<sup>2</sup> 筑波大学大学院生命環境科学研究科 (〒 305-8577 茨城県つくば市天王台 1-1-1)

<sup>3</sup> 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門北海道研究拠点  
(〒 062-0045 北海道札幌市豊平区羊ヶ丘 4)

<sup>4</sup> 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産研究部門  
(〒 305-0901 茨城県つくば市池の台 2)

\* 連絡担当者：菊 佳男

連絡先：国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門北海道研究拠点

所在地：北海道札幌市豊平区羊ヶ丘 4

電話：011-851-2175

F A X：011-853-0767

E-mail：yokiku@affrc.go.jp

### 【要 約】

近年、受精卵移植 (ET) の普及により、酪農家における黒毛和種 ET 産子の生産が増加しているが、その産子の疾病や死亡事故の多発が問題となっている。本研究では、黒毛和種 ET 子牛における加熱初乳の給与が、子牛の発育状況や血液中の免疫グロブリン G (IgG) 濃度および炎症性サイトカイン濃度に及ぼす影響について調査を行い、加熱初乳給与の有効性を検証した。黒毛和種 ET 子牛を供試し、6 頭に非加熱初乳 (非加熱区)、6 頭に低温殺菌器による加熱処理 (60℃ 30 分) した初乳 (加熱区) を、生後 2 時間以内に生時体重の 5% 量を 1 回給与した。また、その 12 時間後に再度同量の初乳を給与した。初乳給与前から 10 週齢まで臨床所見の観察および採血を行った。血液中の IgG 濃度および炎症性サイトカイン (腫瘍壊死因子 (TNF)  $\alpha$ 、インターロイキン (IL)  $1\beta$ 、インターフェロン (IFN)  $\gamma$ ) 濃度は酵素免疫測定法により測定した。各初乳給与後の両区の一般生化学成分、発育および疾病発生率に差はなかった。一方、血液中の IgG 濃度は、初乳給与後 4 から 72 時間まで加熱区で有意に高い値を示したが、TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$  および IFN- $\gamma$  濃度は、加熱区においてそれぞれ初乳給与後 2 時間、24 から 48 時間、8 から 72 時間まで有意に低値となった。以上から、黒毛和種 ET 子牛において、加熱初乳の給与は IgG の血中移行を亢進し、効率的な受動免疫獲得に有効な手法となることが示された。また、初乳の加熱による炎症性サイトカイン濃度の低下は、子牛の発育に大きな影響を与えない可能性が考えられた。

**キーワード**：加熱初乳、受精卵移植、免疫グロブリン G、炎症性サイトカイン、黒毛和種子牛

受付：2016年10月3日

受理：2017年11月9日

## 緒論

近年、普及受精卵移植 (ET) の普及により、酪農家においてホルスタイン種から黒毛和種子牛を生産する事例が増加している [1]。牛受精卵移植 (ET) は、受胎率向上及び牛群改良推進に加え、性判別精液による効率的な後継牛の確保と、ET を活用した黒毛和種生産を組み合わせることで、安定的な経営と増収を見込むことができる反面、酪農家における黒毛和種 ET 産子の疾病や死亡事故多発が問題となっている [2]。ET 産子に限らず、黒毛和種子牛はホルスタイン種に比較して下痢等の疾病罹患率が高いことが知られており [2]、その原因は、免疫機能や肝機能が未熟であること、出生時の体脂肪率が低いにも関わらず増体率が高いためにエネルギー要求量が多いこと等が挙げられている [3]。したがって、黒毛和種子牛に対して初乳を十分に給与し、それに含まれる免疫グロブリン G (IgG) 等の免疫物質を十分に給与することが、健康な発育と生産性確保のためにも特に重要である [4, 5]。

酪農家の多くは、黒毛和種 ET 産子についてもホルスタイン種子牛と同様の飼養管理を行っており、生後まもなく給与する初乳は、ホルスタイン種母牛のものである場合が多い。黒毛和種の初乳中 IgG 濃度は  $160.1 \pm 52.2\text{mg/mL}$  であるのに対し、ホルスタイン種では  $73.1 \pm 27.9\text{mg/mL}$  と、黒毛和種に比較してホルスタイン種の初乳中 IgG 濃度は低く、品種間差が認められることが明らかにされている [4]。そのため、黒毛和種 ET 産子の疾病や死亡事故多発の問題の原因の一つとして、ホルスタイン種初乳を給与する場合、IgG による免疫賦与効果が不十分である可能性が考えられる。

初乳を給与する際には、伝染性疾病の垂直感染予防効果や低温殺菌による雑菌死滅効果を期待した初乳の加熱処理が推奨されている。それに加えて、ホルスタイン種子牛においては、初乳の加熱処理が病原微生物の排除だけでなく、IgG の吸収率を高めることも報告されている [6-10]。初乳摂取前の黒毛和種とホルスタイン種の血中 IgG は、ほぼ検出されず品種間に差はみられないとされているが [4]、加熱初乳摂取後の血中 IgG 濃度の変化についての知見は少ない。また、酪農家が ET 技術を活用した黒毛和種生産を行うにあたり、新生子牛に対する初乳管理技術についての情報が不足している。

本研究では、黒毛和種 ET 子牛に対するホルスタイン種初乳の加熱処理給与が、給与後の血中 IgG 等の免疫物質の移行と疾病発生に及ぼす影響について検討し、黒毛和種 ET 産子への免疫賦与方法としての加熱初乳の有効性を検証した。

## 材料と方法

### 1) 供試牛、試験区および試験期間

本試験は、平成 23 年 5 月から 25 年 12 月にかけて群馬県畜産試験場で行った。供試牛は、同一の受精卵により生産した黒毛和種 ET 産子である。試験区は、凍結保存 ( $-30^{\circ}\text{C}$ ) していたホルスタイン種経産牛初乳を融解後、加熱処理した初乳を給与した加熱区と非加熱初乳を給与した対照区の 2 区を設定し、各区 6 頭 (雄 3 頭、雌 3 頭)、計 12 頭を供試した。分娩難易度は、乳用牛群検定における分類に従ってスコア化した (表 1) [11]。初乳の給与は、出生後 2 時間以内に 1 回目、1 回目給与の 12 時間後に 2 回目を給与し、給与量は出生時体重の 5 % 量/回とした。哺乳欲のない個体についてはスト

表1 分娩難易スコアとその定義

スコア	定義
1	介助無しの自然分娩
2	ごく軽い助産
3	2~3人を必要とした助産
4	数人を必要とした難産
5	外科処置を必要とした難産 または分娩時母牛の死亡を伴う難産

マックチューブ（ストマックチューブⅡ、富士平工業株式会社、東京）を使用して規定量を給与した。3回目以降の哺乳は代用乳（TDN: 103%、CP:28%）を朝夕各3L給与した。試験期間は出生直後から10週齢までとし、試験期間中はカーフハッチでの単独飼育とした。

## 2) 初乳の処理

試験用初乳は、一元放射免疫拡散（SRID）法（エコスチェック、メタボリックエコシステム研究所、宮城）を用いてIgG1およびIgG2濃度を測定し、合計で50mg/mL以上の初乳を供試した。凍結保存初乳は全量を一度4℃で融解、混合した後、その半量を加熱区初乳として、初乳加温器（ミーサン、共立製薬、東京）で60℃30分の加熱処理を行い、試験開始まで2Lずつ-30℃で再凍結して保存した。残りの半量は、対照区初乳として加熱処理を行わずに2Lずつ再凍結して保存した。給与時は40℃の温湯で融解した後サンプルを採取し、SRID法にてIgG1およびIgG2濃度を測定した。さらに一般乳成分（乳脂率、無脂固形分率、乳蛋白質率、乳糖率、乳中尿素窒素（MUN））を赤外線牛乳分析器（ミルコスキャン、FOSS、東京）により測定した。

供試牛の発育成績は、体重を1週間毎に計測し、各試験区の疾病発生状況については、呼吸器および消化器疾病の延べ治療日数を比較した。

## 3) サンプル採取および解析

初乳給与前（0時間）、給与後2、4、8、12、24、48、72時間および7、21、35、70日に臨床所見の観察および頸静脈から採血を行った。採血後、遠心分離（4℃、3000rpm）により得られた血清および血漿は、分析に供するまで-30℃で凍結保存した。

血液生化学検査として、グルコース（Glu）、総コレステロール（T-cho）、総蛋白質（TP）、γ-グルタミルトランスペプチターゼ（GGT）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、尿素窒素（BUN）、ビタミンA（Vit.A）およびビタミンE（Vit.E）を測定した。Glu、T-cho、TP、NEFA、BUN、ASTおよびGGTは血液生化学自動分析装置（富士ドライケム

3500、富士フィルム、東京）により測定した。Vit.AおよびVit.E濃度は、高速液体クロマトグラフィー（CL6、島津製作所、東京）により測定した。免疫物質の解析として、血清中IgG濃度および血漿中サイトカイン濃度（TNF-α、IL-1β、IFN-γ）を酵素免疫測定法（ELISA法）により測定した[12]。IgG吸収率の算出は以下の計算式を用いた。

$$\text{IgG 吸収率 (\%)} \\ = \{(\text{生時体重} \times 0.095 \times \text{血清中 IgG 濃度}) / \\ \text{総 IgG 摂取量}\} \times 100 \quad [7]$$

## 4) 統計処理

各項目において分散分析を実施し、試験区の効果が危険率5%未満となったものを有意差ありとした。また、交互作用が認められた項目についてはBonferroniの方法に従って効果の検出を行い、危険率5%未満となったものについて有意差ありとした。

## 結果

供試牛の母牛産次数は、対照区が $1.9 \pm 0.5$ 産次、加熱区が $2.0 \pm 0.5$ 産次であった。出生時の供試牛の概要および初乳の乳成分を表2に示した。供試牛の難産率のスコアは、対照区 $2.0 \pm 0.3$ および加熱区 $2.0 \pm 0.3$ と共に正常分娩であり、両区に違いは無かった。また、出生時体重（対照区： $39.2 \pm 3.2$  kg、加熱区： $38.5 \pm 2.1$  kg）および初乳摂取量（対照区： $4.0 \pm 0.3$  L、加熱区： $3.9 \pm 0.3$  L）に差はみられなかった。給与した初乳は、一般乳成分に差はなかったが、IgG濃度が対照区 $72.5 \pm 0.4$  mg/mL、加熱区 $73.6 \pm 0.3$  mg/mLであり、加熱区が有意に高かった。

供試牛の発育成績は、日増体量（DG）が対照区 $0.90 \pm 0.05$  kg、加熱区 $0.99 \pm 0.08$  kgであり、両区に差は認められなかった。両区における試験期間中の呼吸器および消化器疾患の平均治療日数は、対照区 $1.33 \pm 0.59$ 日、加熱区 $1.83 \pm 0.89$ 日であり、試験区間に差はなかった。

血液生化学成分濃度は、すべての項目で試験区間の差は認められなかった（データは示さない）。

血清IgG濃度およびIgG吸収率の推移を表3に示した。血清IgG濃度は、初乳給与直前で

表2 出生時の供試牛の概要および初乳の乳成分

	試験区	
	対照区	加熱区
供試子牛		
分娩難易度	2.0 ± 0.3	2.0 ± 0.3
生時体重 (kg)	39.2 ± 3.2	38.5 ± 2.1
初乳給与量 (L)	4.0 ± 0.3	3.9 ± 0.3
給与初乳成分		
乳脂肪分率 (%)	6.7 ± 0.2	7.0 ± 0.3
無脂固形分率 (%)	15.8 ± 0.3	15.6 ± 0.1
乳蛋白質率 (%)	11.8 ± 0.2	11.7 ± 0.1
乳糖率 (%)	3.0 ± 0.0	2.9 ± 0.0
MUN (mg/L)	22.7 ± 0.7	23.9 ± 1.1
IgG 濃度 (mg/mL)*	72.5 ± 0.4	73.6 ± 0.3 *

\*: IgG1およびIgG2

\*: 2区間に有意差あり (\*:  $p < 0.05$ )

平均±標準誤差

表3 血清IgG濃度およびIgG吸収率の推移

初乳給与後 時間	IgG濃度		IgG吸収率	
	対照区 (mg/mL)	加熱区 (mg/mL)	対照区 (%)	加熱区 (%)
0時間	0.58 ± 0.47	0.29 ± 0.15	1.19 ± 0.96	0.70 ± 0.37
2時間	0.62 ± 0.26	0.89 ± 0.24	1.26 ± 0.57	2.18 ± 0.58
4時間	1.16 ± 0.48	4.76 ± 0.38 **	2.84 ± 1.17	11.62 ± 0.93 **
8時間	3.92 ± 0.65	7.31 ± 0.78 **	9.56 ± 1.58	17.85 ± 1.90 **
12時間	4.53 ± 0.66	7.47 ± 0.66 *	11.06 ± 1.61	18.25 ± 1.61 *
24時間	7.58 ± 0.97	12.14 ± 0.52 **	18.50 ± 2.36	29.63 ± 1.27 **
48時間	6.26 ± 0.89	10.69 ± 0.72 **	15.29 ± 2.16	26.10 ± 1.75 **
72時間	6.53 ± 1.35	9.89 ± 0.64 *	13.29 ± 3.79	24.14 ± 1.57 *
1週	5.96 ± 1.15	8.10 ± 1.22	14.56 ± 2.80	19.78 ± 2.98
3週	5.39 ± 0.78	7.46 ± 0.71	13.15 ± 1.90	18.21 ± 1.72
5週	4.96 ± 0.48	6.49 ± 0.72	12.12 ± 1.16	15.85 ± 1.77
10週	4.95 ± 0.34	5.71 ± 0.93	12.08 ± 0.84	13.93 ± 2.28

\*, \*\*: 2区間に有意差あり (\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ )

平均±標準誤差

は対照区  $0.58 \pm 0.47$  mg/mL、加熱区  $0.29 \pm 0.15$  mg/mL と差はなかったが、給与後4時間から72時間まで加熱区が有意に高値で推移し、給与後24時間で両区とも最高値（対照区  $7.58 \pm 0.97$  mg/mL、加熱区  $12.14 \pm 0.52$  mg/mL）となった。その後も試験観察期間終了時まで、血清IgG濃度は加熱区が対照区に比べ高値であった。

IgG吸収率に関しても、血清IgG濃度と同様に、初乳給与後4時間から72時間まで加熱区が有意に高値で推移した。IgG吸収率のピークは初乳給与後24時間の加熱区  $29.63 \pm 1.27$  %、対照区  $18.50 \pm 2.36$  % であった。その後も試

験観察期間終了時まで、IgG吸収率は加熱区が対照区に比べ高値であった。

図1に血漿サイトカイン濃度の推移を示した。TNF- $\alpha$ 濃度は、初乳給与直前では対照区  $626.9 \pm 64.5$  pg/mL、加熱区  $508.2 \pm 66.6$  pg/mLであったが、初乳給与後2時間で加熱区 ( $100.3 \pm 61.5$  pg/mL) が対照区 ( $374.2 \pm 96.8$  pg/mL) より有意に低い値となった（図1a）。その後、両区ともに急増し、給与後24時間で最高値（対照区:  $1667.2 \pm 298.6$  pg/mL、加熱区:  $1492.4 \pm 320.1$  pg/mL）となり、その後漸減した。IL-1 $\beta$ 濃度は、対照区は給与後24時間で最高値  $348.0 \pm 110.2$  pg/mLとなり、加熱区



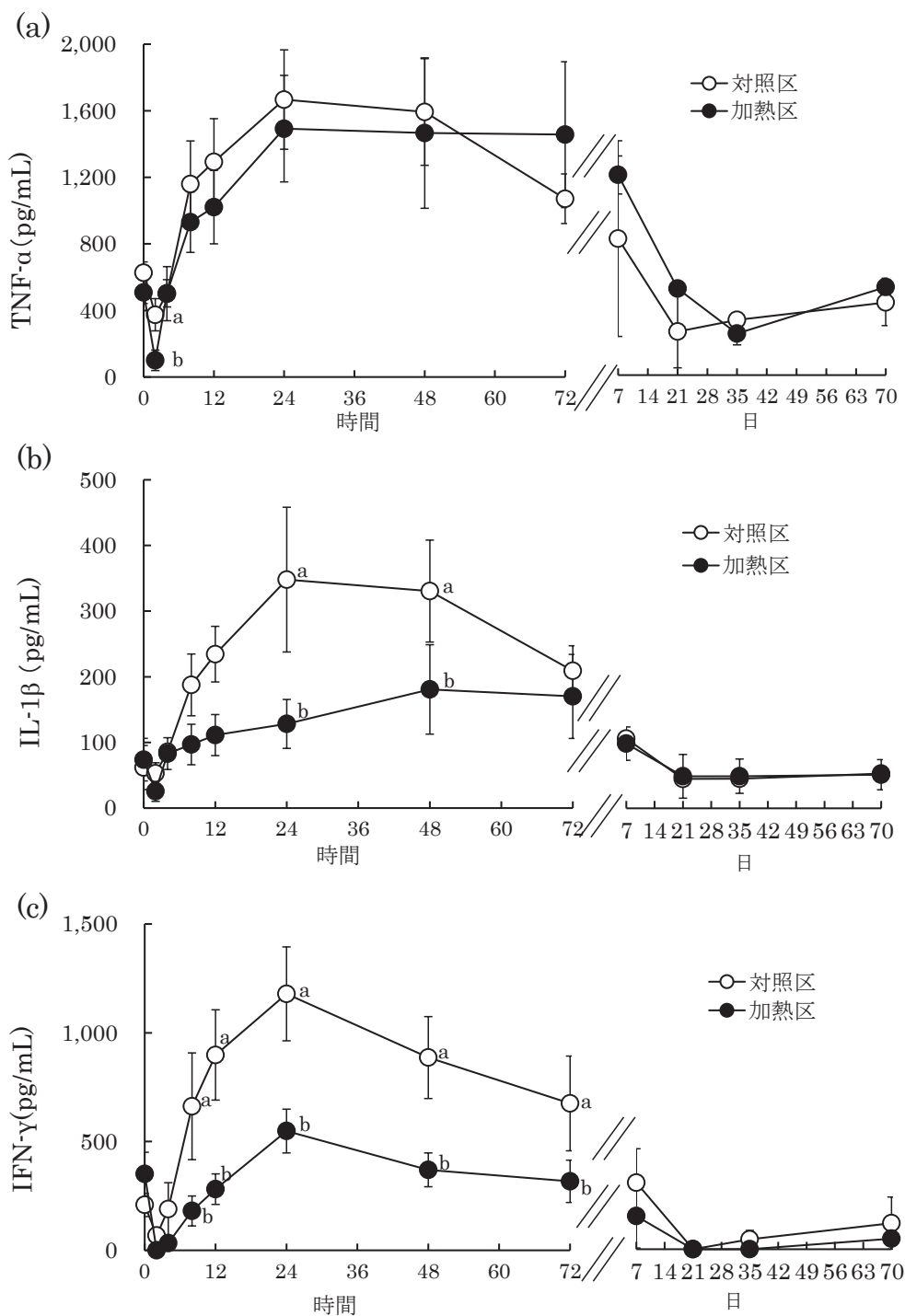


図1 血漿中サイトカイン濃度の推移 (a) TNF- $\alpha$ 、(b) IL-1 $\beta$ 、(c) IFN- $\gamma$

は給与後 48 時間で最高値  $180.7 \pm 68.1$  pg/mL となった。給与後 24 時間および 48 時間において、加熱区が対照区に比べ有意に低かった (図 1b)。IFN- $\gamma$  濃度は、両区ともに初乳給与後 24 時間で最高値 (対照区:  $1178.9 \pm 215.8$  pg/mL、加熱区:  $548.3 \pm 100.6$  pg/mL) を示し、初乳給与後 8 時間から 72 時間において、加熱

区が対照区に比べ低値であった ( $p < 0.05$ ) (図 1c)。

#### 考察

ホルスタイン種新生子牛において、加熱処理初乳を給与した試験では、生後 24 時間における血清 IgG 濃度および IgG 吸収率が顕著に増

加することが報告されている [6-10]。本試験においても、黒毛和種 ET 新生子牛に対して、ホルスタイン種初乳を加熱処理することによって、生後 24 時間の血清 IgG 濃度は非加熱初乳が  $7.58 \pm 0.97\text{mg/mL}$  に対して、加熱初乳は  $12.14 \pm 0.52\text{mg/mL}$ 、IgG 吸収率は  $18.49 \pm 2.36\%$  に対して  $29.63 \pm 1.27\%$  と高値を示した。これらの結果から、品種に関わらず  $60^\circ\text{C}$  30 分の加熱初乳の給与が、血清 IgG 濃度および吸収率の上昇に関与することを明らかにした。

新生子牛が受動免疫を十分に獲得するためには、生後 24 ~ 48 時間の血清中 IgG 濃度が、ホルスタイン種においては  $10\text{mg/mL}$ 、黒毛和種においては  $20\text{mg/mL}$  以上となることが望ましいとされている [4,5,13,14]。これらの濃度未満の場合に受動免疫移行不全 (Failure of Passive Transfer: FPT) とされ、ホルスタイン種新生子牛の場合、死亡率が 2 倍以上に及ぶことを指摘する報告もある [4]。安松谷ら [15] の報告では、黒毛和種における生後 48 時間の IgG 濃度は  $18.8\text{mg/mL}$  とされているが、本試験における血清 IgG 濃度は、対照区および加熱区ともにそれより低い値で推移した。その一方で、発育成績は黒毛和種の標準発育曲線の範囲内であり、発育不良は認められなかった [16]。ET 産子を含め、黒毛和種新生子牛がホルスタイン種初乳を摂取した場合の血中免疫物質濃度については知見が少ない。本試験で給与した試験初乳中の IgG 濃度は、既往の研究により報告されているホルスタイン種の初乳中 IgG 濃度と同程度であった [17]。黒毛和種新生子牛は、蛋白質代謝を担う肝機能が、ホルスタイン種に比較してやや未熟とされていることから [3]、本試験における血清中 IgG 濃度の低値は、子牛の IgG 吸収能に起因するものと考えられる。また、母牛からの自然哺乳で初乳を摂取した黒毛和種子牛は、人工哺乳を行っているホルスタイン種に比較して血清 IgG 濃度が高く推移する [5] ことから、本試験では人工哺乳を行っていたことも血清 IgG 濃度が低く推移した一因の可能性がある。

生後 48 時間以内の初乳摂取状況によっては、FPT となるリスクが高まることが知られている。今回、加熱処理を行った初乳は、IgG 濃度が  $73.6 \pm 0.3\text{mg/mL}$  と対照区に比較して有意

に高い値となった。初乳の加熱処理は、IgG 濃度の低下や粘性の増加等の乳質の変化を生じさせることがこれまで多く報告されてきた [8,18]。しかしながら、近年の研究では、新たに開発された低温殺菌器の利用や  $60^\circ\text{C}$  30 分または 60 分という加熱条件により、初乳中の IgG 濃度および粘性に変化が生じないとされている [6,9,19]。本試験においては、加熱処理後の初乳一般乳成分に変化は認められず、IgG 濃度が上昇する結果となった。また、初乳給与後 4 時間から 72 時間まで子牛の血清 IgG 濃度は加熱区が有意に上昇した。特に、FPT となるリスクの高い生後 48 時間以内にも、加熱区では血清 IgG 濃度や IgG 吸収率の有意な上昇が認められており、黒毛和種 ET 子牛に対しても加熱初乳の給与は新生子牛における FPT リスク回避に有効であることが示された。

初乳を加熱することにより IgG 吸収率が高まる機序は現在解明されていないが、低温殺菌による病原細菌数の減少が一因であると考えられている [18]。初乳に含まれる細菌は、新生子牛の消化管内で抗体や腸管上皮細胞の IgG レセプターと結合することによって、初乳中の IgG 吸収を阻害することが知られており、初乳の加熱処理による総細菌数の減少、即ち IgG 吸収阻害要因の減少に起因していると考えられている [20,21]。一方、非加熱の高濃度細菌数の初乳と低濃度細菌数の初乳とでは、それらを摂取した新生子牛の IgG 吸収率に差がないことも報告されており [22]、初乳中の細菌数を減少させることの意義について統一された見解は見出されていない。本試験における IgG 吸収率上昇の要因は明らかでないが、今後、より確実な効果を得るためにも、初乳中の細菌数の減少に起因したものであるのか、あるいは個体の腸管吸収能の違いに影響されるのか等の機序解明を課題としたい。

本試験では、試験区間において血清 IgG 濃度については差が見られたが、TP 値等の血液生化学性状や発育成績、疾病発生状況に差はみられなかった。既往の研究では、加熱初乳を給与したホルスタイン種新生子牛では、血清 IgG 濃度の上昇とともに、血清 TP 値との正の相関 [7] および疾病発生率の低下 [8] も報告されている。本試験は、衛生条件の整った環境下で

単独飼育により実施したため、疾病発生への影響が明確ではなかった可能性があるが、血液一般生化学性状に異常値は認められず、血清 IgG 濃度の有意な上昇が確認されたため、フィールドにおける群飼や離乳等のストレス時には疾病発生を抑え、順調な発育に貢献する可能性が期待できる。

血漿サイトカイン濃度については、加熱区において IL-1 $\beta$  および IFN- $\gamma$  が非加熱区に比較し低値となり、加熱処理によって初乳からのそれらサイトカインの移行が阻害されることも明らかとなった。初乳中に含まれるサイトカインは、IgG やラクトフェリン等の免疫物質と同様に、新生子牛の免疫機能を補助し、子牛が自らサイトカインを産生するまでの間、初乳からの IL-1 $\beta$  や TNF- $\alpha$  等のサイトカイン吸収は子牛のリンパ球活性化のために重要であるとされている [23,24]。乳用子牛では、初乳からのサイトカイン吸収が低濃度であった場合、呼吸器や消化管感染症に罹患しやすいという報告がある [4] が、黒毛和種子牛では明らかにされていない。さらに、黒毛和種新生子牛はホルスタイン種に比較して、初乳から吸収された免疫物質による免疫活性効果が低いことが示されている [3]。本試験において、両試験区間の発育状況や疾病発生状況に違いがなかったため、加熱区における IL-1 $\beta$  および IFN- $\gamma$  移行の低下が及ぼす影響について明らかにすることができなかった。しかしながら、ET 産子を含めた黒毛和種新生子牛への加熱初乳給与が、その後の発育および生産性に及ぼす影響について明らかにするため、今後は母子免疫のモニタリングや疾病発生状況の把握、リンパ球機能の解析等の更なる詳細な検討が必要である。

以上のことから、黒毛和種 ET 産子に対してホルスタイン種初乳を給与する場合、加熱処理は子牛の血清 IgG 濃度を効率的に上昇させることが明らかになった。新生子牛への初乳の給与は、効果的に IgG 量を獲得させることが求められていることから、本法は酪農家が ET を用いた黒毛和種生産を組み入れるためにも、産子に高い免疫賦与を行う有用な方法であると考えられた。今後は、今回明らかにすることができなかった加熱処理が IL-1 $\beta$  および IFN- $\gamma$  移行の低下が生体へ及ぼす影響を明らかにすると

もに、IgG 吸収率上昇の機序を解明することが重要と考えられた。また、さらに長期間にわたる免疫機能および発育成績への影響を調査し、経済的効果を明確にしていくことが本技術を安全に普及させるための課題である。

## 引用文献

- [1] 全国家畜産物衛生指導協会. 1993. 生産獣医療システム (農林水産省畜産局衛生課監修) 乳牛編. 農山漁村文化協会, 東京, p39.
- [2] Ohtsuka, H., Ono, M., Saruyama, Y., Mukai, M., Kohiruimaki, M. and Kawamura, S. 2011. Comparison of the peripheral blood leukocyte population between Japanese Black and Holstein calves. *Anim. Sci. J.* 82:93-98.
- [3] 佐野公洋. 2009. 黒毛和種とホルスタイン種新生子の生理学的特徴: 子牛の科学. (家畜感染症学会編). チクサン出版社, 東京, pp85-91.
- [4] 遠藤洋. 2009. 新生子牛における抗病性と初乳の役割: 子牛の科学. (家畜感染症学会編). チクサン出版社, 東京, pp81-84.
- [5] 新盛英子, 滄木孝弘, 石井三都夫. 2013. 生後 7 日齢の子牛における血清 IgG および TP 濃度を用いた受動免疫移行不全の診断. *産業動物臨床医誌* 4: 1-7.
- [6] Donahue, M., Godden, S. M., Bey, R., Wells, S., Oakes, J. M., Sreevatsan, S., Stabel, J. and Fetrow, J. 2012. Heat treatment of colostrum on commercial dairy farms decreases colostrum microbial counts while maintaining colostrum immunoglobulin G concentrations. *J. Dairy Sci.* 95: 2697-2712.
- [7] Elizondo-Salazar, J. A., and Heinrichs, A. J. 2009. Feeding heat-treated colostrum to neonatal daily heifers: Effect on growth characteristics and blood parameters. *J. Dairy Sci.* 92: 3265-3273.
- [8] Green, L., Godden, S. M., and Feirtag, J. 2003. Effect of batch and high temperature-short time pasteurization on immunoglobulin G concentrations in colostrum. *J. Dairy Sci.* 86: 246.
- [9] Johnson, J. L., Godden, S. M., Molitor, T., Ames, T. and Hagman, D. 2007. Effect of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immune and nutritional parameters in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 90: 5189-5198.
- [10] Godden, S. M., Smolenski, D. J., Donahue, M., Oakes, M., Bey, R., Wells, S., Sreevatsan, S., Stabel, J. and Fetyow, J. 2012. Heat-treated colostrum and reduced morbidity in preweaned dairy calves: Results of a randomized trial and examination of mechanisms of effectiveness. *J. Dairy Sci.* 95: 4029-4040.

- [11] 河原孝吉、後藤裕作、馬場俊見、山口諭、鈴木三義. 2013. ホルスタインの泌乳量、繁殖性、死産および経済的効果に対する分娩難易の影響. 日畜会報. 84:309-317.
- [12] Kushibiki, S., Shingu, H., Kawasaki, R., Komatsu, T., Itoh, F., Watanabe, A., Touno, E., Oshibe, A., Katoh, K., Obara, Y. and Hodate, K. 2008. Effect of bovine lactoferrin feeding on lipopolysaccharide-induced metabolic and hormonal disturbances in preruminant calves. *Anim sci J.* 79: 375-381.
- [13] Quigley, J. D. and Drewry, J. J. 1998. Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre- and post calving. *J. Dairy Sci.* 81: 2779-2790.
- [14] Weaver, D. M., Tyler, J. W., VanMetre, D. C., Hostetler, D.E. and Barrington, G. M. 2000. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *J. Vet. Intern. Med.* 14: 569-577.
- [15] 安松谷恵子、笠井浩司、山中健吾、坂瀬充洋、西野治、赤地勝、万所幸喜、久米新一. 2013. 出生後の黒毛和種新生子牛への免疫グロブリン G と免疫グロブリン A の移行. 日本畜産学会報. 84:389-393.
- [16] 全国家畜産物衛生指導協会. 1993. 生産獣医療システム (農林水産省畜産局衛生課監修) 肉牛編. 農山漁村文化協会, 東京, pp31-34.
- [17] Swan, H., Godden, S., Bey, R., Wells, S., Fetrow, J. and Chester-Jones, H. 2007. Passive transfer of immunoglobulin G and preweaning health in Holstein calves fed a commercial colostrum replacer. *J. Dairy Sci.* 90: 3857-3866.
- [18] Godden, S. M., McMartin, S., Feirtag, J., Stabel, J., Bey, R., Goyal, S., Metzger, L., Fetrow, J., Wells, S. and Chester-Jones, H. 2006. Heat-treatment of bovine colostrum. II : Effect of heating duration on pathogen viability and immunoglobulin G. *J. Dairy Sci.* 89: 3476-3483.
- [19] Elizondo, S. J. A., Jayarao, B. M. and Heinrichs, A. J. 2010. Effect of heat treatment of bovine colostrum on bacterial counts, viscosity, and immunoglobulin G concentration. *J. Dairy Sci.* 93: 961-967.
- [20] James, R. E., Polan, C. E. and Cummins, K. A. 1981. Influence of administered indigenous microorganisms on uptake of Iodine-125  $\gamma$ -globulin in vivo by intestinal segments of neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 64: 52-61.
- [21] Meylan, M., Rings, D. M., Shulaw, W. P., Kowalski, J. J., Bech-Nielsen, S. and Hoffsis, G. F. 1996. Survival of *Mycobacterium paratuberculosis* and preservation of immunoglobulin G in bovine colostrum under experimental conditions simulating pasteurization. *Am. J. Vet. Res.* 57:1580-1585.
- [22] Elizondo, S. J. A. and Heinrichs A. J. 2009. Feeding heat-treated colostrum or unheated colostrum with two different bacterial concentrations to neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 92: 4565-4571.
- [23] Hagiwara, K., Yamanaka, H., Higuchi, H., Nagahata, H., Kirisawa, R. and Iwai, H. 2001. Oral administration of IL-1 $\beta$  enhanced the proliferation of lymphocyte and the O<sub>2</sub>- production of neutrophil in newborn calf. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 59-69.
- [24] Staley, T. E. and Bush, L. J. 1985. Receptor mechanisms of the neonatal intestine and their relationship to immunoglobulin absorption and disease. *J. Dairy Sci.* 68: 184-205.



## Effect of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immunoglobulin G and inflammatory cytokine in neonatal Japanese black calves produced by embryo transfer

Haruhi Hirabayashi<sup>1,2</sup>, Tomohisa Tomaru<sup>1</sup>, Yoshio Kiku<sup>3\*</sup>,  
Kazue Sugawara<sup>3</sup>, Tomohito Hayashi<sup>3</sup>, Shiro Kushibiki<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>Gunma Prefecture Livestock Examination Station, Maebashi, Gunma

<sup>2</sup>Graduate School of life and environmental sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki

<sup>3</sup>Hokkaido research station, National Institute of Animal Health, NARO, Sapporo, Hokkaido

<sup>4</sup>NARO Institute of Livestock and Grassland Science, Tsukuba, Ibaraki

\*To whom correspondence should be addressed: Yoshio Kiku

Hokkaido research station, National Institute of Animal Health, NARO

Hitsujigaoka 4, Toyohira, Sapporo, Hokkaido 062-0045 Japan

Tel: +81-11-851-2175; Fax: +81-11-853-0767

E-mail: yokiku@affrc.go.jp

### [Abstract]

Holstein heifers have been implanted with the embryo of Japanese black (JB) breed through the spread of embryo transfer (ET) technique in recent years; however, the high incidence of diseases in the calves has become a major problem. The aim of this study was to evaluate the effect of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immunoglobulin G (IgG) and inflammatory cytokine in JB calves produced by ET. Colostrum was heat treated (HTC; 60 °C for 30 min) or untreated ('raw', RC). Twelve neonatal calves were systematically assigned to be fed around 2.0 L (5 % of birth weight) of HTC (n=6) or RC (n=6) within 2 h of birth. These calves had been fed HTC or RC in the 12 h after the first feeding, respectively. Blood samples were collected from calves between 0 h to 10 w of age for hematological and immunological evaluation. After feeding each colostrum, there were no differences in blood biochemical markers, daily gain and the morbidity of the calves between both groups. Serum IgG concentrations of HTC group were significantly higher than those of RC group between 4 and 72 h after the first feeding. On the other hand, tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-1 $\beta$  and interferon- $\gamma$  concentration in plasma of HTC group were lower in 2 h, 24 to 48 h and 8 to 72 h than those of RC group, respectively. These results showed that the feeding of HTC was useful method to gain passive transfer of IgG for JB calves produced by ET. The reduction of the inflammatory cytokine concentration by heating the colostrum may not have a significant effect on the growth in calves.

**Keywords:** Embryo transfer, Heat-treated colostrum, Immunoglobulin G, Inflammatory cytokine, Japanese black calves